

⑨ 日本国特許庁 (JP)
⑫ 公開特許公報 (A)

⑩ 特許出願公開
昭57—53661

⑤ Int. Cl.³
G 01 N 33/48

識別記号

庁内整理番号
6422—2G

⑬ 公開 昭和57年(1982)3月30日
発明の数 2
審査請求 有

(全 15 頁)

⑭ 血液から血漿又は血清を分離する器具及び方法

⑯ 特 願 昭56—121959

⑰ 出 願 昭56(1981).8月5日

優先権主張 ⑱ 1980年8月5日 ⑲ 西ドイツ
(DE) ⑳ P 3029579.5

㉑ 発 明 者 ペーター・フオーゲル
ドイツ連邦共和国ヘムスバツハ
・シユーベルトヴェーク5

㉒ 発 明 者 ハンス・ペーター・ブラウン
ドイツ連邦共和国ヘムスバツハ
・アウフ・デア・アウ3

㉓ 発 明 者 デイター・ベルガー

ドイツ連邦共和国フイールンハ
イム・ベンスハイマー・シュト
ラーセ45

㉔ 発 明 者 ヴォルフガング・ヴェルナー
ドイツ連邦共和国マンハイム31
マイセナー・ヴェーク39

㉕ 出 願 人 ベーリンガー・マンハイム・ゲ
ゼルシャフト・ミット・ベシユ
レンクテル・ハフツング
ドイツ連邦共和国マンハイム・
ヴァルトホーフ・ザントホーフ
エル・ストラーセ112-132

㉖ 復代理人 弁理士 矢野敏雄

明 細 書

1 発明の名称

血液から血漿又は血清を分離する器具及び方法

2 特許請求の範囲

1. 平均直径0.2〜5 μ 及び密度0.1〜0.5 g/cm³を有するガラス繊維製の層よりなり、分離すべき血漿又は血清の量がガラス繊維層の吸引量の最大50%になるように構成されていることを特徴とする、血液から血漿及び血清を分離する器具。

2. ガラス繊維に合成有機繊維が混入されているか又はこれらが無機又は有機結合剤で固着もしくは相互に接合されている、特許請求の範囲第1項記載の器具。

3. ガラス繊維はカラム内に積層されていて、カラムの頂部には血液の装入部及び端部には血漿の取出部が備えられている、特許請求の範囲第1項記載の器具。

4. ガラス繊維層の下には弁が備えられており

(1)

、その下には血漿の中間貯蔵部が備えられており、ここから血漿を圧搾により取り出すことができるように構成されている、特許請求の範囲第3項記載の器具。

5. ガラス繊維層は、ガラス繊維紙又はガラス繊維フリースより成り、血漿の内容物質を検出するための診断材の一部である、特許請求の範囲第1項記載の器具。

6. ガラス繊維層は、不活性担持材上に固定されている多層診断材の最上層をなしている、特許請求の範囲第5項記載の器具。

7. 検出反応を最下層で行ない、担持材を通して分析する、特許請求の範囲第6項記載の器具。

8. ガラス繊維層及び場合により他の層は、切り離し可能な層を介して反応層と結合していて、血漿の侵入もしくは反応の経過の後に、切り離し可能な層と一緒に除去される、特許請求の範囲第5項記載の器具。

9. 切り離し可能な層は、反応層の隣りに担持

(2)

材と結合しているネットである、特許請求の範囲第8項記載の器具。

10. 反応層がガラス繊維層の1部分上に吸着性接触により接合されているか、又は圧着されていて、血液が他の部分上に施こされるように構成されている、特許請求の範囲第8項記載の器具。

11. 血液から血漿又は血清を分離する場合に、血液を、ゆつくり平均直径 $0.2 \sim 5 \mu$ 及び密度 $0.1 \sim 0.5 g/cm^3$ のガラス繊維製層を通して滲み出させ、流れ出る血漿を採集し、この際、分離すべき血漿又は血清の量を、ガラス繊維層の吸引量の最高50%になるようにすることを特徴とする、血液から血漿又は血清を分離する方法。

12. 流出する血漿を直接、診断材中に入れる、特許請求の範囲第11項記載の方法。

13. 流出する血漿を吸着性担持材中に集め、乾燥させかつ内容物質の検出のために溶解させる、特許請求の範囲第11項記載の方法。

(3)

直接使用のための迅速診断材を入手する試みがなされている。この場合、例えば試験紙の半透膜での被覆(米国特許第3092485号明細書)及び水で膨潤するフィルム(この中には血液の溶解成分のみが侵入し、赤血球は侵入できない)の使用(西ドイツ特許出願公告第1598513号明細書参照)が挙げられている。これらの方法は、もちろん、血液の低分子量成分例えばグルコース又は尿素の試験の際にのみ使用でき、血液の高分子量成分例えば脂質又は血清蛋白に結合している基質例えばビリルビンの試験の際にはこの方法では測定できない。それというのも、これらは膜にするか又は半透膜を透過させることはできないからである。更に血液細胞分離用の診断材に濾過膜を被覆する提案も公知である(西ドイツ特許出願公告第2222951号明細書及び西ドイツ特許出願公開第2922958号明細書参照)。これら診断材の欠点は、濾過膜を通つて血液を非常にゆつくり、かつ少量だけ透過することができにすぎ

(4)

3. 発明の詳細な説明

臨床化学において、血液からの血清又は血漿を分離することは、実際にこれら2成分のみから溶解血液成分の分析が申し分なく実施できるので、非常に重要である。

赤血球から血清又は血漿を分離する通常のかつ慣用の形は遠心分離である。しかしながら、これは殊に僅かな試料量の使用の際には問題であり、上澄み及び血べいの分離もあまり簡単ではなく、従つて、そのための一連の補助手段が文献に記載されている(例えば西ドイツ特許出願公告第2559242号明細書参照)。

迅速診断の際の血液の使用は特に重要である。迅速診断材は、試薬を含有する吸着可能の又は膨潤可能な担持材、有利に濾紙製の担持材であり、この上に例えば少量の被検液体を滴下し、この際非常に短かい反応時間に基づき、肉眼で評価されるか又は反射測光法で測定される変色が現われる。血液のような濁つて、着色している溶液は読み取りを妨げるから、完全血液の

(4)

ないことである。それというのも、これは容易に目づまりし、相応して反応は長時間かかるからである。既に市販されている前記の診断材とは反対に、最後に記載の種類の迅速テストは、従つてなお市販されていない。

更に、西ドイツ特許出願公開第2908721号及び同第2908722号明細書からは、血液を平均繊維直径 $5 \sim 20 \mu$ もしくは $3 \sim 10 \mu$ を有するプラスチック繊維製の層で濾過する際に、血液からリンパ球もしくは白血球を分離できることが公知である。しかしながら、赤血球は主として血漿と一緒にフィルターを透過するので、このフィルターは血漿を得るためには不適當である。純粋な思维的に、それより優れて炭素繊維、ガラス繊維及び金属繊維が挙げられる。

従つて、本発明の課題は、遠心分離することなしに迅速かつ確実少量の血液を分離しかつ殊に診断の目的の試料調製として好適な、完全血液から血漿又は血清を分離するための簡単な

(4)

器具をみつけることであつた。

ところで、血液をガラス繊維単独又は他の繊維と混合した堆積物を通して流過させる際に、迅速かつ簡単に、満足しうる量で、完全血液から血漿もしくは血清を分離することが判明した。この事実、前記西ドイツ特許出願公告第2222951号明細書に白色血液成分の分離のためにガラス繊維マツトを使用することが記載されているが白血球の分離のためには、付加的な濾膜の使用が必ず必要とされることから、一層意外であることが判明した。

本発明は次の特徴を有する。

ガラス繊維はゆるく堆積されていてよく、紙、フリース又はフェルトの形であるが、所望の他の外形に保持されて使用することもできる。このように形成されたガラス繊維は、前記の迅速診断材の被覆として、その使用のために従来、血清又は血漿を予め得る必要があつたこの診断材が現在は完全血液の直接使用のために好適であるようにするために、使用することができ

(7)

じで、著しく分布できるが、約10μの上限を越えるのは例外的である。長さは、堆積の方法によつてのみ限定されているが、その他は影響しない。堆積の方法に応じて、0.1~0.5g/cm²通例0.2~0.4g/cm²の密度が認められる。

更に、ガラス繊維は、相互に又は他の材料製の繊維と混合することができ、これにより繊維の内部結合を改良することができる。例えば合成繊維例えばポリエステル、ポリアミド等も、ポリエチレン、ポリプロピレン及び他の熱により後に成形可能なプラスチック製の繊維も好適である。添加物は、本発明による細いガラス繊維による分離に影響を及ぼす程多量でなければ、大きい直径(10~20μ)を有していてもよい。

更に、ガラス繊維は無機結合剤(例えば水ガラス)又は有機結合剤(例えばポリ酢酸ビニル、ポリプロピオン酸ビニル、ポリアクリル酸エステル等)の添加により固化することができ、これらにより、ガラス繊維は接触位置に接着す

(8)

きる。

更に、ガラス繊維の充填されたカラム、濾過器又は他の好適な容器もこのために使用することができ、血液を単に流過させることにより遠心分離することなしに血清又は血漿を得ることができ、これらは適当な方法で診断器具に用意することができる。それというのも、血清もしくは血漿は、赤血球及び白血球よりは迅速にそのような層を通過するからである。

前記のガラス繊維は種々の直径の繊維から成つていてよい。このガラス材料は、アルカリ含有又はアルカリ不含有のホウ珪酸ガラス又は純粋な石英ガラスから成つていてよい。他の工業用ガラス例えばホウ素不含有のアルカリガラス、クリスタルガラス、鉛ガラス等よりなる繊維材料は、繊維の必要寸法では入手されず、従つて試験できなかつた。しかしながら、これから出発してもこれらは好適である。ガラス繊維の平均直径は0.2μ~約5μ有利に0.5μ~2.5μ殊に0.5~1.5μである。繊維直径は、製造に

(9)

ることができる。

特に、本発明によるガラス繊維層と診断剤との組合せは有利であり、これも同様に本発明の目的である。

ガラス繊維は、この診断剤中で、赤血球の滲血を阻止する試薬、凝固を抑制又は促進する試薬並びに指示薬層中で必要であるがその試薬とは非相容性である試薬を含有していてもよい。これらの最後の試薬は、もちろんガラス繊維と指示薬層との間にあるすべての層中にも入れることができる。

このような本発明による診断器具の構造を第1図で説明する。かたいベース材2上に、迅速診断材の反応層1が付着されている。この反応層に密接して、液体透過性の、織られたか又はフェルト加工されたプラスチック系製のネットよりなる薄い分離層4が施こされており、これは反応層の両側で容易に引きはなすことができるようにし、ベース材の長手部分に把み易いグリップ4aを残すように接合されている。次に

(10)

この反応層の上に、ガラス繊維紙3が施こされている。これは、もう1枚のネット5で、このネットが分離層4と同様に反応層の上と下に付着するような位置に固定されている。

反応層1は、含浸された吸着性担持材又は膨潤可能な又は多孔性のプラスチック膜よりなつていてよい。ベース材2としては、有利に、厚いプラスチックシート、堅い厚紙、ガラスプレート又は他の安定な担持材を使用する。

血液滴8をこの迅速診断材の上に施こした後、ガラス繊維紙中で血漿は、赤血球及び白血球から分離される。こうして分離された血漿は、分離層4を経て診断剤の反応帯域1に入る。血漿が反応帯域に侵入する特定時間の後に、分離層をその解放端で把み、ガラス繊維紙及びネット5と共に引き離す。引続き、検出反応を行なう反応層を、肉眼で又は反射測光法で評価することができる。

本発明の迅速診断材のもう1つの可能な構造を第2図に示すが、この際は、前記構造に付加

19

分的に含浸された吸着性担持材の形でガラス繊維紙上に接合させることもできる。

更に、第4図及び第5図に記載のように、本発明による診断材は次のように構成されていてもよい。ベース材2の上にまず吸着性材料例えばセルロース紙又はプラスチックフィルムを、かつこの材料の上にガラス繊維紙3及び反応層1が接合されている。この場合、吸着性材料9は反応層と同じ面を占めていてよい(第5図)か、又は材料9が1面を解放しているような大きな面を占めていてよい(第4図)。血液を吸着性材料の解放面(第4図)の上に又は、直接吸着性材料(第5図)の隣りに滴下し、ここから迅速に吸収させ、ガラス繊維紙に吸引させる。引続き、ガラス繊維紙の吸収性により血液を上方にガラス繊維紙に吸引させると、この際赤血球の分離が行なわれ、血漿は反応層1に達する。反応を第3図におけると同様に迅速診断材の上から観察する。

第6図は、完全血液の直接使用に好適な迅速

19

的に、すべての種類の液体を透過させる1以上の層8を、これらがガラス繊維紙の上(第2a図)又は下(第2b図)に存在するように施こす。これらの付加的層は、易溶性で血漿と共に反応帯域に達するか又は難溶性で検出反応の1以上の前工程を最終的反應帯域1の外に流出させる試薬で含浸されていてよい。

第3図には、本発明の迅速診断材のもう1つの構造(第3a図は側面図、第3b図は平面図である)が記載されており、ここではガラス繊維紙3が直接、ベース材2上に接合されている。ガラス繊維紙の1部分の上に反応層1が施こされている。ガラス繊維紙の解放部分の上に血液8を施こす。ガラス繊維紙中で赤血球から分離された血漿は、ガラス繊維紙中で反応層まで拡散し、この中に入る。反応時に生じる反応色は、この迅速診断材の上面から観察できかつ評価できる。反応層は、ガラス繊維紙上に直接、圧着するか又は被覆することにより施こすことができる。しかしながら、これは完全に又は部

20

診断材のもう1つの構造を示している。これは、堅いベース材2の上に、隣接して吸着性層9(これは例えばセルロース紙又はセルロース含有プラスチック繊維フリースより成る)及びガラス繊維層3が施こされているように構成されている。これら2層は緊密に接合すべきである。吸着性の層9の表面に、迅速診断材に必要な検出試薬が存在し、これは、例えば、西ドイツ国特許出願公開第2910134号明細書に記載のような解放性フィルムの被覆を通して施こされていてよい。

ガラス繊維層の反応層からはなれた側の上に血液滴を施こす際に、まず血漿がその分離位置の前縁で吸着性の層9に達し、直ちにこれにより吸引されるように血漿-赤血球分離が行なわれる。毛細管現象により血漿は反応層1に入り、ここで検出反応は例えば上から見える変色により認知できる。

更に、本発明による診断材は、第7図に記載の形で製造できる。この場合、ガラス繊維紙

20

3をベース材上に接着させる。ベースは接触個所に1個以上の孔11を有する。他の側の上に反応層1を直接又は接着によりガラス繊維紙上に施すことができる。血液8は、孔(又は複数の孔)を通つてガラス繊維紙3上に送るよう診断材上に施す。ガラス繊維紙中で分離された血漿は、反応層1上に当たり、眼で又は反射測光法でその表面で測定可能な反応を生じる。この場合、反応層は透視性の被覆層7により保護されている。

反応層1は例えばガラス繊維マツト上に圧着した層よりなつていてよいが、これは、多層の素子から成つていてもよく、この際、層は種々の試薬を含有していてもよく、かつ/又は種々の機能を果たしていてもよい(例えば西ドイツ特許出願公開第2922958号明細書参照)。

第8a図は本発明によるもう1つの診断材の断面図であり、第8b図は、その平面図であり、ここで、ガラス繊維よりなる分離層3並びに反応に必要な層8は予め固定された型12によ

09

6図の構造上に相当する。このバリア15は、ガラス繊維の表面で血液8が差当り拡散して、指示薬領域を不純化するのを阻止するだけでなく、ガラス繊維の分離作用を決定的に改良もする。従つて、著しく少量の血液を必要とする結果を有する比較的小さいガラス繊維紙3を用いて操作することができる。このバリアは慣用方法で、例えばノメルから又はふるいを用いて施すことができる。バリア用の疎水性材料は、例えば融解接着剤又は慣用の溶剤接着剤又はワックスであつてよい。

更に、第9図には、血漿を完全血液の赤血球から、遠心分離せずに分離し、診断の目的に供給する本発明による実施形の構造が記載されている。このために、例えば図に記載の形を有する管又は容器13に前記のガラス繊維14を充填する。血液8を上から容器中に入れる。次いで下向きの道からガラス繊維を通つて血漿が血液の赤血球から分離される。容器の下部に集まる血漿は、例えばエンド-ツ-エンド(end

10

to-end)毛細管により吸取するか又は吸引し、直接、他の診断法に供することができる。

もう1つの他の本発明の構造を第10図に記載するが、ここでは赤血球の分離のために好適な容器13は、これは、下部にガラス繊維14が密に充填されているピストンポンプの形を有していてもよい。血液8を上から解放されているこの容器中に入れる。赤血球及び白血球の分離を行なつた後に(この際血漿は容器の下部に集まる)、ピストン17を挿入し、かつ注意深く圧搾することにより、まず血漿を射出部から圧出させることができる。

血漿を得るための本発明の方法は、第11図に示すように、容器13を用いても実施でき、この容器は、1方向に透過させる弁16により2分されていて、前記ガラス繊維が充填されている。血液8を上からこの容器内に充填する。血漿は、赤血球の分離の後に容器の下に集まり、容器の下部の圧搾により取り出すことができる。この場合、弁16は、血漿が血液細胞を含

11

有する上部に逆流することを阻止する。

更に、本発明方法は、第1図に記載の装置を用いて実施でき、この際、ベース材2上に接合された反応層1は所定の吸着性材料より成り、血液を施与する際に所定の血漿量が層1に達する。層3、4及び5の分離の後に、血漿を、例えば分析すべき物質を溶剤で溶離させることができる。

血漿の溶出及び分析は、直ちに、但し、分析すべき物質に応じて、後に、他の場所で行うことができる。分析を後に行なうべき場合は、血漿をまず例えば温空气中又は凍結乾燥により乾燥させるのが有利である。更に、試料施与の部位からはなれて、試薬を含有する1以上の範囲を予め用意して溶剤での溶離の際に全反応混合物を同時に溶離させることができる。

反応色が肉眼だけでは評価できなく、反射測光法で測定すべき場合は、反応層1を、測定器具の汚れをさけるために、被覆層7で覆うのが有利である。反応層1が西ドイツ特許出願公開

(19)

ある。例えば、特別な一定温度で進行すべき酵素の測定の際には、診断材を充分に一定の温度にされている際に、反応がはじめて開始される。同様に、血漿が集まる3及び9の帯域で、被検物質に時間に関連する反応で一定状態にする即ち予備反応を進行させる試薬を中断することができる。この1例はクレアチン-キナーゼをN-アセチルシステインで活性化することである。

第12図、第13図及び第14図には、種々の可能な構造が記載されており、ここで第13図では、疎水性バリア15が同時に層1及び7の固定部として役立っている。残りの層の記号及び構成は第3図～第8図に示したものと同一である。

第14図で疎水性ネット18が反応層1とガラス繊維3もしくは吸着層9との間に記載されている。この疎水性ネットは、構成成分を不所望の軽い接触から保護し、液接触を強力な圧搾の際にはじめて現われさせる。このことは、改

(21)

第2910134号又は同第1598155号明細書によるフィルムである場合は、これを直接被覆層7上に積層し、次いで、双方を一緒に取付けるのが有利である。可能な実施形を第30図に示す。もちろん、被覆層7は第70図に示すような他の実施形で、他は第7図に相当するような実施形で使用可能である。

更に、反応層1が、接当りガラス繊維3もしくは吸着性層9と導液性に接触せず、前記層が、完全に血漿もしくは血清で満たされる際にはじめて接触するような構成を選択するのが有利であることが立証された。この構成の利点は、血漿もしくは血清を反応層1と予め決定できる正確な時点で接触させることができることである。更に、全面上でこれらの接触を行なうと、前記の装置で場合によつて表れるようなクロマトグラフィ効果は排除された。血液8の供与と反応層1中での反応の開始の間に予め決定可能な時間を置くことができることは、特別に調節可能な条件で進行すべき反応の際に特に重要で

(20)

良された実施性に寄与している。

もちろん、反応層1は2以上の種々異なる帯域より成つていてよい。これらは、処方を適当に選択する際に、種々の濃度範囲の同物質又は異なる物質を検出することができる。更に、同時に種々異なる反応層が滴下位置から出る血漿で濡らされる構成も考えられる。ここで長い、円形及び類似の種々の形が考えられる。

第150図～第170図に、第10図～第14図とは種々の試験区域で異なつていて、残りの記号は前記図面のものと同じ、可能な構成が示されている。

血液分離は、ガラス繊維3上に血液滴下箇所にもう1個のガラス繊維区域30が施こされる際に、同様に改良することができる。この場合、30及び3は同じ材料より成つていてよいが、30には他の厚さのもしくは他の繊維直径を有する材料を選択することができる。第18図及び第19図には、残りが第3図及び第12図に相当する可能な構成が示されている。

(22)

次に実施例につき本発明を詳説する。

例 1

コレステリン-試験片

メチルヒドロキシプロピル	
セルロース (Guilminal	
MHPG 8000)	7.117g
二酸化チタン	7.000g
KH_2PO_4	0.138g
$Na_2HPO_4 \cdot H_2O$	0.479g
コレステリンエステルゼ	3400 μ
コレステリンオキシダーゼ	5000 μ
ペルオキシダーゼ	$7 \times 10^4 \mu$
ジオクタルスルホコハク酸	
ナトリウム	0.478g

を水 70 ml 中に溶かす。次いで、順次に、

セルロース 14.0g

ポリプロピオン酸ビニル-

分散液 8.4g

を均一に混入する。最後に、

アセトン 1.6 ml 中に溶かした 3.3, 5.5

(23)

$Na_2HPO_4 \cdot H_2O$	1.55g
コレステリンエステルゼ	$1.5 \times 10^4 \mu$
コレステリンオキシダーゼ	$1 \times 10^4 \mu$
ペルオキシダーゼ	$3 \times 10^5 \mu$
ジオクタルスルホコハク酸	
ナトリウム	2.0g
アルギン酸ナトリウム (アルギボン)	6.9g

を水 250 ml 中に溶かし、なおアセトン 1.5 ml 中に溶かした 3.3, 5.5 - テトラメチルベンジジン 2.0g をこれに加える。引続き珪素土 20.0g を均質に分配させる。この反応物質を幅 8 mm の中でスクリーン印刷機 (目: 190 μ) を用いて、ガラス繊維紙 (例えばガラス繊維フィルター No 85/90 Machery, Nagel & Co.) 上に、例 1 に記載の形で施す。圧縮したガラス繊維紙を 60~80℃ で乾燥させ、幅 12 mm の片に切断して、圧縮した反応帯域は片の半分を形成している。この片をポリエステルシートの端部に接着し、これをガラス繊維紙

(25)

テトラメチルベンジジン 0.68g を加える。

このパッチを約 300 μ の厚さで平らなプラスチックシート上に被覆し、60~70℃ で乾燥の後に幅 8 mm の片に切断する。この片に引続きナイロン製の 60 μ 厚さのネット及び同様に幅 8 mm に切断したガラス繊維紙 (Schleicher & Schüll のガラス繊維フィルター No 3362、紙の厚さ 0.47 mm、密度 0.27 g/cm²、平均繊維直径約 2.5 μ) と共にポリエステルシート上に接着させる。引続き、これを幅 8 mm の片に切断する。

この試験片の上面に血液 40 μ l を塗布し、1 分後に残りの血液を有するガラス繊維紙をネットと一緒にひきはがしにより除き、次いで、3 分以内に試験区域上に血液の代りに、同じ血液の遠心分離された血漿を塗布する際に得られると同じ反応色が生じる。

例 2

コレステリン-テスト

KH_2PO_4	0.45g
------------	-------

(24)

に対して横に幅 8 mm の片に切断する。被覆されていないガラス繊維紙の試験層からはなれた縁部に血液 40 μ l を滴下し、血漿を反応帯域の下に滲出させる。これは血液のコレステリン濃度との関係で、種々異なる強さの青色反応色に染まる。反応色の強度は、血液の代りに同じ血液から得られる血清又は血漿で斑点をつける際に得られるものに相応する。同様に、次の第 1 表に記載の紙も使用できる。

第 1 表

血漿分離のためのガラス繊維紙

製造者	型	繊維直径 (μ)	繊維平均直径 (μ)	面積 (g/m ²)	厚さ (μ m)	密度 (g/cm ³)
Machery & Nagel	85/90BP	2~9	3.2	87	350	0.249
Nucleopore	p 300	1~3	1.3	25	89	0.275
Schleicher & Schüll	No 9	3~4	3.4	87	269	0.247
Schleicher & Schüll	3362	1~7	2.5	127	472	0.269

(26)

例 3

コレステリンデスト

セルローズ M + NAO 10	16.0 g
メチルヒドロキシプロピル	
セルローズの0.2%溶液	
(culminal MHPD 8000)	88.0 g
凝固剤 (Marlon)	0.32 g
凝固剤 (Na-ジオクタテルス	
ルホサタシネート)	0.68 g
ポリビニルプロピオネート	
-分散液 (propiofan 70D)	12.0 g
テトラメチルベンジジン	0.48 g
二酸化チタン	10.0 g
コレステリンエステラーゼ	9800 μ
コレステリンオキシダーゼ	7200 μ
ペルオキシダーゼ	$1.04 \times 10^4 \mu$
没食子酸	0.01 g

よりなる試薬物質を、疎水性ポリエステルフリース (Dupont 社の Reemay 2033) 上に0.2 mmの厚さで被覆し、80℃で乾燥させる。引続

(27)

出させた。ここから、エンド-ツグ-エンド毛細管をピペット先端開口部に近づけることにより内容15 μ l を充填することができる。こうして得た血漿は直接、任意の分析法に導びくことができる。

きこの被覆の幅8 mmの片及びガラス繊維フィルター (例えば Schleicher, Schüll の Filter 3352) の幅12 mmの片を堅いプラスチック片上に隣接して接着させて、ガラス繊維フィルターが非常に緊密に被覆フリースに突き当たるようにする。そのプラスチック片から横に幅8 mmの片を切断する際に試験片が得られ、これで、完全血液約50 μ l を試薬フリースからはなれたガラス繊維フィルター側で滴下した後、短時間後に、純粋な血漿だけが試薬フリース中に到達し、その強度が血液中のコレステリンの濃度に応じて増加する青い反応色を示す。

例 4

分離された血漿の取得

下方に向つて円錐形に細くなっているプラスチック容器 (ピストン行程ピペットのプラスチック先端、長さ5 cm、厚さ0.5 cm) に次の第2段に記載のガラス繊維を疏るく充填し、この時、嵩密度0.1~0.4 g/cm³が得られる。上の解放端部に血液を充填し、血清を容器先端まで凝

(28)

第2表 例4の試験構造での種々のガラス繊維の分離能の試験

ガラス繊維: 特性、分離能が血球/血漿	ガラス繊維の長さ (mm)	平均	分離能 (m ² /g)	分離能 赤血球/血漿
USA 100	300	0.25	3.1	+
102	300	0.32	4.5	+
104	600	0.4	3.12	+
106	1000	0.54	2.6	+
108 A	1200	0.58	1.72	+
108 B	1200	0.74	-	+
109	1200	0.71	-	+
109 DOR	1200	0.85	-	+
109	1200	0.77	-	+
109	1200	0.83	-	+
109	1200	0.94	-	+
109	1200	1.19	-	+
109	1200	1.2	-	+
109	1200	1.44	-	+
109	1200	1.6	-	+
109	1200	2.16	-	+
109	1200	2.49	-	+
109	1200	2.7	-	+
109	1200	3.10	-	+
109	1200	3.2	-	+
109	1200	3.8	-	+
109	1200	4.0	-	+
109	1200	4.5	-	+
109	1200	5.2	-	+
109	1200	5.5	-	+

(30)

② 繊維の80%がこの範囲にある。

例 5

疎水性バリアの作用効果

疎水性バリア15の作用効果を明確にするため、第14図に記載の器具を使用した。これは幅6mm、厚さ0.3mmの透視可能なポリカーボネート担持シート2、厚さ0.09mmのガラス繊維紙製の9×6mmの大きさの吸着層9、厚さ0.075mmの疎水性ナイロンネット18より成り、透明な被覆シート7で被覆されている。層9を有する吸着性接触でガラス繊維紙5を幅6mm及び次表に示す長さを有するガラス繊維紙(Schleicher Schüll AG 3.38.2厚さ0.47mm)よりなる担持材上に固定させる。この装置の各半分は層3、9及び18の間の接触個所で、パラフィンワックス製の幅約2mm厚さ0.1mmのバリア15を備えている。

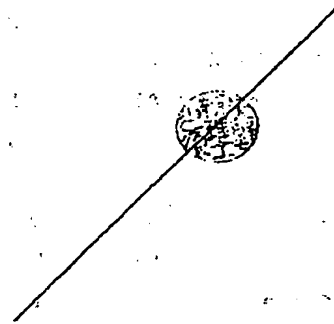
血漿の取得の調査のために、ガラス繊維紙3の中央に、次の第3表に記載の血液量を施し、30秒後に吸着性層9の張り、並びに場合によつては過飽和(層9への赤血球の浸入深さ)を測定する。表の結果は、疎水性のバリアが分離能を改良し、完全な飽和が達成され、既に非常に少量の血液量で、例えば指先の内側からの毛細管による血液で、この種の試験を実施することができる。実験は、それぞれ5回実施し、結果を平均した。

(31)

ガラス繊維フ リースの寸法	点 置かれた 血液量 (μ l)	疎水性バリアを有する層9の 透過率(%)		疎水性バリアを有しない層 の透過率(%)	
		$\bar{x}n=5$	$\bar{x}n=5$	$\bar{x}n=5$	$\bar{x}n=5$
6×6mm	25 30 35	88 97 99	0 0 0	77 72 83	12 22 18
7×6mm	29 35 41	86 100 100	0 0 0	88 87 97	5 21 31
8×6mm	33 40 47	96 100 100	0 0 0	79 92 100	0 0 15

(33)

を測定する。表の結果は、疎水性のバリアが分離能を改良し、完全な飽和が達成され、既に非常に少量の血液量で、例えば指先の内側からの毛細管による血液で、この種の試験を実施することができる。実験は、それぞれ5回実施し、結果を平均した。



(32)

4 図面の簡単な説明

第1図、第2a図、第2b図、第3a図、第3b図、第3c図、第4図、第5図、第6図、第6a図及び第6b図はそれぞれ本発明の器具の実施形を示す断面図であり、第3b図は第3a図の平面図であり、第3c図は第3b図の平面図であり、第7図及び第7a図は、本発明の器具のもう1つの実施形を示す断面図であり、第8a図は、更に本発明の器具のもう1つの実施形を示す断面図であり、第8b図は第8a図の平面図であり、第9図、第10図及び第11図は更に本発明の実施形を示す図であり、第12図、第13図、第14図及び第15a図、第16a図、第17a図、第18図及び第19図の各々は更に本発明の実施形を示す断面図であり、第15b図は第15a図の平面図であり、第16b図は第16a図の平面図であり、第17b図は第17a図の平面図である。

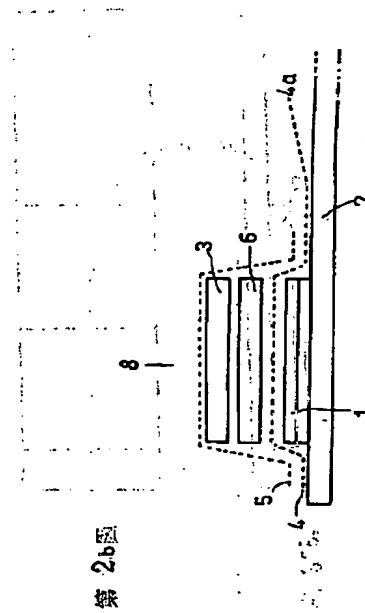
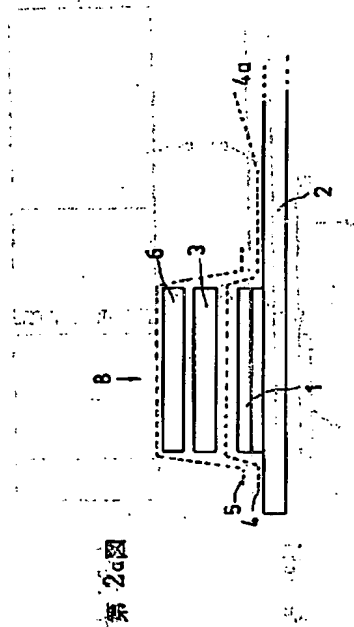
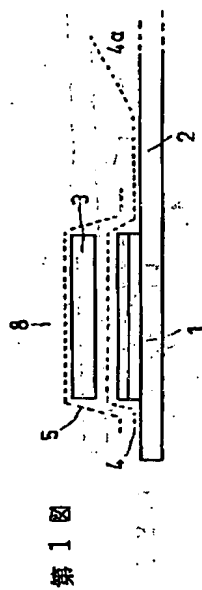
1…反応層、2…ベース材、3…ガラス繊維層、4…分離層、5…ネット、6…液体透過層

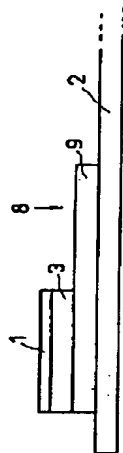
(34)

7…透視性被覆層、8…血液、9…吸着性層、
11…孔、13…容器、14…ガラス繊維、
15…疎水性バリア、16…弁、17…ピスト
ン、18…疎水性ネット

復 代 理 人 弁 理 士 矢 野 敏 雄

(35)

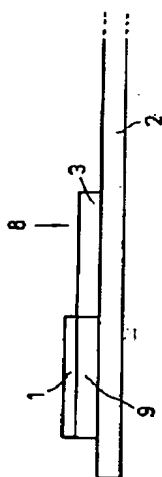




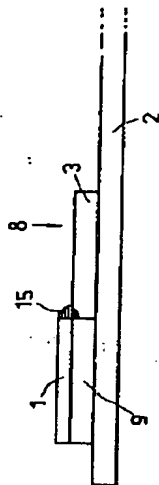
第4图



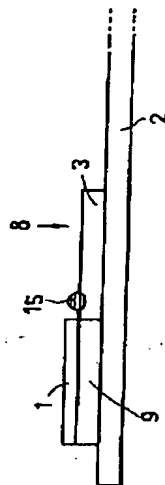
第5图



第6图



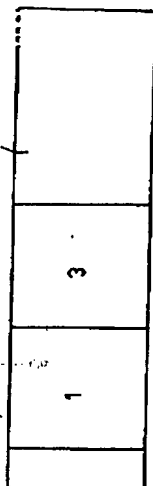
第6a图



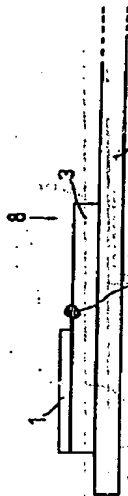
第6b图



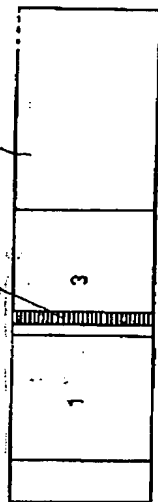
第3a图



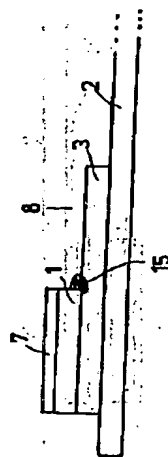
第3b图



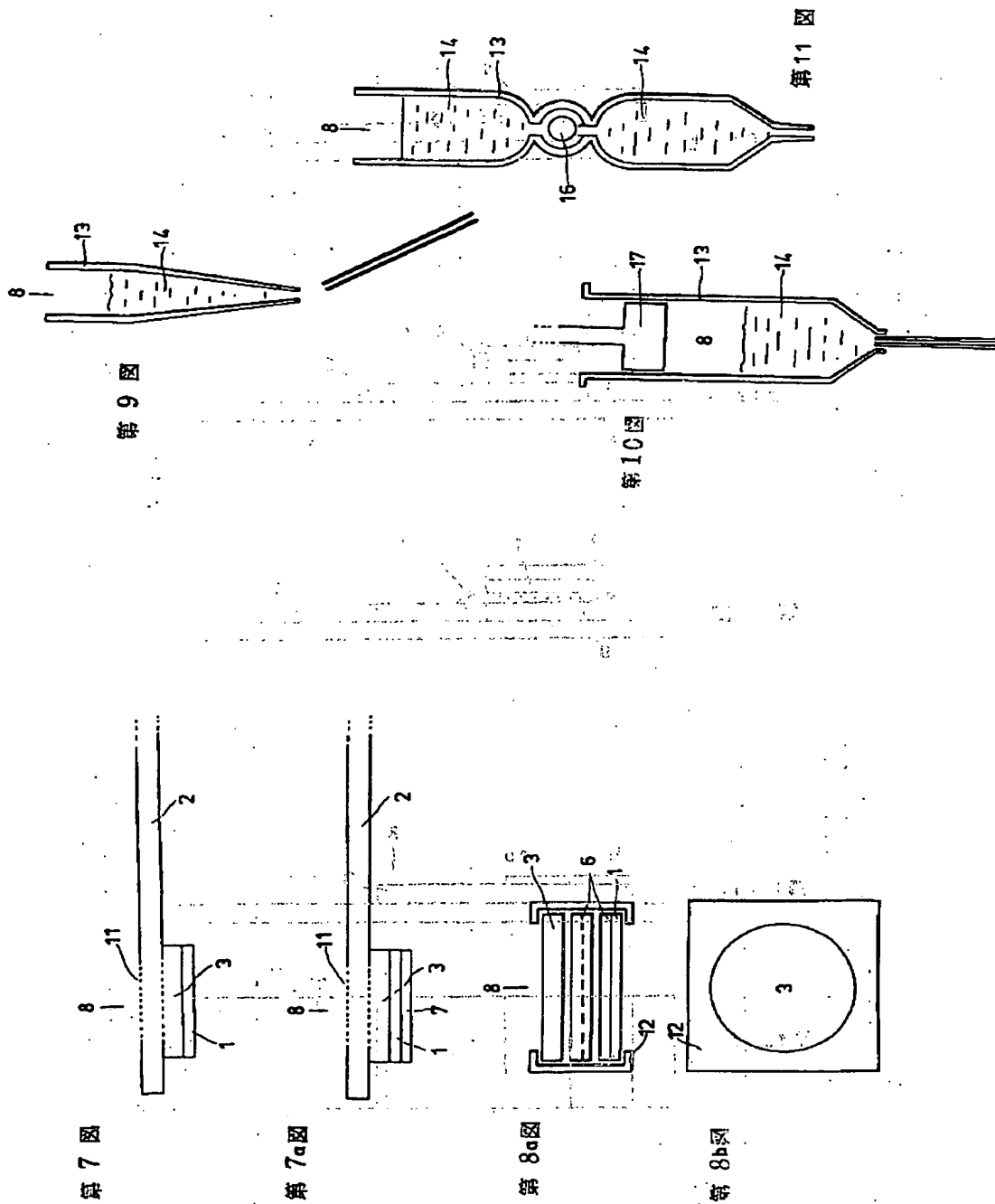
第3c图



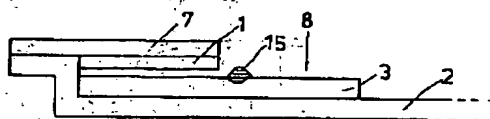
第3d图



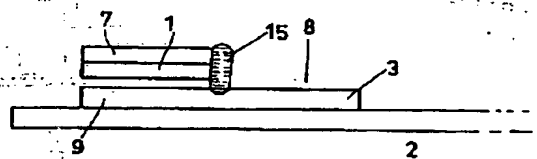
第3e图



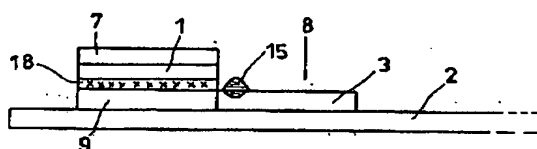
第12 図



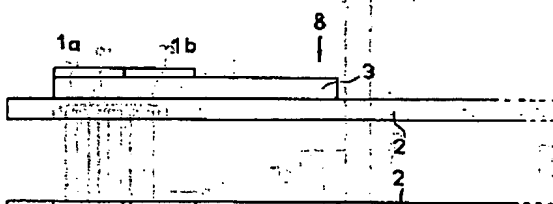
第13 図



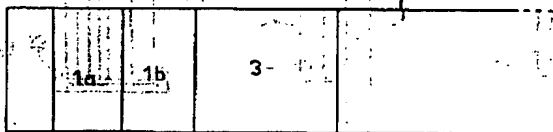
第14 図

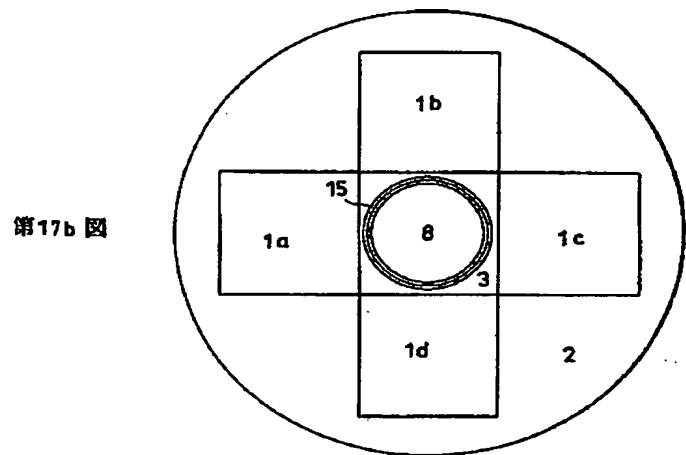
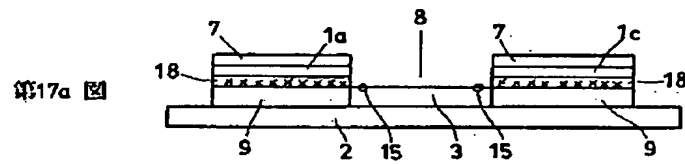
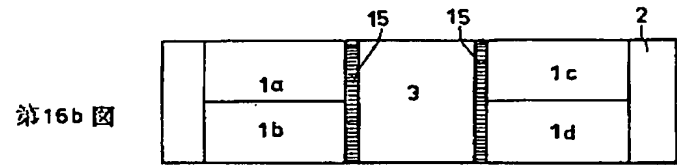
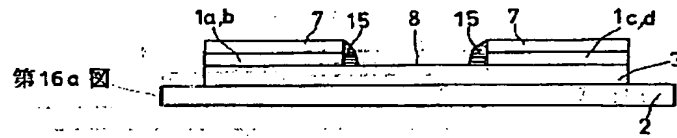


第15 a 図

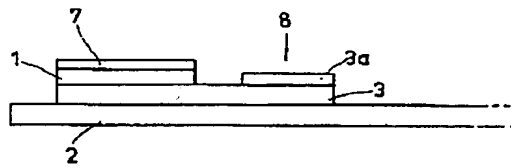


第15 b 図

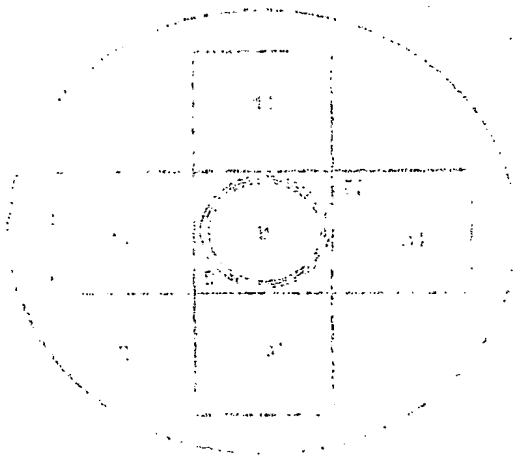
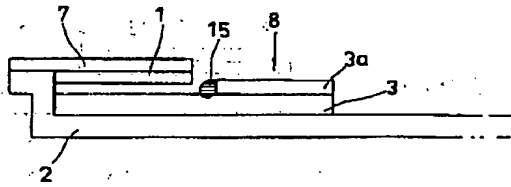




第18 図



第19 図



THIS PAGE BLANK (USPTO)